

Análise do cultivo de fibroblastos de pterígios primários e recidivados e da cápsula de Tenon normal

Fibroblasts from primary and recurrent pterygia and Tenon's capsule in cell culture

Magda Massae Hata Viveiros¹
Silvana Artioli Schellini²
Sílvia Rogato³
Claudia Rainho⁴
Carlos Roberto Padovani⁵

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade proliferativa dos fibroblastos da cápsula de Tenon, provenientes de explantes de pterígios primários e recidivados e da conjuntiva normal. **Métodos:** Foi realizado estudo prospectivo, randomizado, avaliando-se 43 peças cirúrgicas, produto da exérese de 30 pterígios primários e 13 recidivados, além de fragmentos da cápsula de Tenon normal, obtida dos próprios portadores de pterígio. Foram avaliadas a taxa de proliferação, migração e confluência, analisadas segundo dados dos portadores como: idade, localização da lesão, tipo de lesão (tamanho, involutivo ou carnosos), primário ou recidivado. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. **Resultados:** Dentre os 30 pterígios primários cultivados, 70% migraram e proliferaram e 60% chegaram à confluência. A migração, proliferação e confluência iniciaram-se mais precocemente nas culturas de fibroblastos provenientes de pterígios em comparação àquelas provenientes da Tenon normal. Os pterígios recidivados apresentaram migração mais precoce que os primários. Não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao início da migração, proliferação e confluência entre os pterígios carnosos ou involutivos, assim como entre os pterígios de graus I-II e os de graus III-IV. **Conclusão:** O cultivo celular de fibroblastos de pterígios é mais viável que o de Tenon normal. A migração, proliferação e confluência diferem em pterígios primários e recidivados. Pterígios carnosos e involutivos são semelhantes em cultura, assim como não existe diferença entre os pterígios segundo o tamanho da lesão.

Descritores: Pterígio; Recidiva; Proliferação de células; Fibroblastos; Conjuntiva

INTRODUÇÃO

Apesar da elevada ocorrência em nosso meio, existe ainda muita controvérsia em relação à etiologia do pterígio, sua patogênese e tratamento⁽¹⁾.

Há fortes evidências de que a luz ultravioleta (UV) representa importante fator de risco para o desenvolvimento da lesão⁽²⁾, mas ainda não foi possível induzir experimentalmente o pterígio em animais expostos à radiação⁽³⁾. Outros fatores etiológicos possíveis são a exposição ao vento, poeira, altas temperaturas e baixa umidade do ar, de modo que, a agressão crônica aos olhos, na área da fenda palpebral, provoca lesões nervosas corneanas e causa ulcerações limbares tróficas indolores, fazendo com que a membrana de Bowman alterada, possibilite a migração dos ceratoblastos como ilhas progressivas subepiteliais, com progressão da cabeça do pterígio em direção ao centro da córnea⁽⁴⁻⁶⁾.

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual de São Paulo - UNESP - Botucatu (SP) - Brasil.

¹ Doutoranda da Universidade Estadual de São Paulo - UNESP - Botucatu (SP) - Brasil.

² Livre-docente do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu (SP) - Brasil.

³ Livre-docente do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu (SP) - Brasil.

⁴ Professor Doutor do Departamento de Genética do Instituto de Biociências da Faculdade de Medicina da UNESP - Botucatu (SP) - Brasil.

⁵ Professor Titular do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências da UNESP - Botucatu (SP) - Brasil.

Endereço para correspondência: Silvana Artioli Schellini. Faculdade de Medicina de Botucatu (UNESP). Departamento de OFT/ORL/CCP. Distrito Rubião Júnior, s/n - Botucatu (SP) CEP 18610-000
E-mail: sartioli@fmb.unesp.br

Recebido para publicação em 04.04.2005

Versão revisada recebida em 20.05.2005

Aprovação em 01.11.2005

Nota Editorial: Depois de concluída a análise do artigo sob sigilo editorial e com a anuência do Dr. Sérgio Felberg sobre a divulgação de seu nome como revisor, agradecemos sua participação neste processo.

Do ponto de vista histológico, o epitélio que faz parte da lesão é normal, estando a alteração localizada na porção sub-epitelial, ou seja, na cápsula de Tenon, onde ocorre crescimento fibrovascular com características de degeneração elástica⁽⁷⁾. O estroma possui também IgE, IgG, plasmócitos e linfócitos, apontando para fator alérgico⁽⁸⁾.

Devido aos muitos fatores ambientais que atuam sobre o pterígio, os ensaios clínicos não permitem que se conclua sobre a sua patogenia ou sobre a melhor maneira de tratá-lo. Estudos "in vitro" poderiam trazer novos conhecimentos para o assunto.

Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a atividade proliferativa dos fibroblastos da cápsula de Tenon, provenientes de explantes de pterígios primários e recidivados em cultura de células, comparando-os com a atividade proliferativa dos fibroblastos da cápsula de Tenon normal.

MÉTODOS

Foi realizado estudo prospectivo, controlado, duplo cego, na Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, avaliando-se fragmentos da cápsula de Tenon e de conjuntiva normal, de 30 pterígios primários e 13 recidivados. Os espécimes foram obtidos da cápsula de Tenon dos pterígios e da conjuntiva sadia do mesmo olho, removida do setor temporal inferior. Os portadores de pterígio temporal ou nasal e temporal, foram excluídos.

Os fragmentos de tecido foram colocados em meio de cultura e separados conforme provenientes de portadores de pterígio primário, recidivado e cápsula de Tenon normal.

Foram avaliados dados dos portadores, como a idade e o tipo de lesão: involutivo ou carnosos, tamanho (graus I, II, III ou IV) e se primário ou recidivado.

A taxa de proliferação dos fibroblastos conjuntivais em cultura foi avaliada diariamente, durante 50 dias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística pelo método de comparações binomiais, aplicando-se o teste de Mann-Whitney e o teste de correlação de Spearman para situações em que houve necessidade.

Método de cultivo celular: as peças cirúrgicas foram colocadas em tubos tipo Ependorff estéreis e hermeticamente fechados, estocados à temperatura de 5°C, em período inferior a 3 horas após a exérese, para seu processamento. Sob condições de assepsia, na câmara de fluxo laminar, as amostras foram colocadas em placas de Petri de 35 mm e lavadas com meio DMEM/F12 (Gibco, suplementado com: 5 ml/l de vitaminas TC minimal Eagle 100X, 0,01 U/ml de insulina, 1,4 g/l de bicarbonato de sódio, 400.000 U/ml de penicilina, 40 mg/ml de gentamicina, 5 mg/ml de anfotericina-B e 15 µg/l de glutatona, com pH final de 7,0), para a remoção do excesso de células sanguíneas e então cortadas em fragmentos de aproximadamente 1 mm² com pinça e tesoura cirúrgicas delicadas e estéreis. Estes fragmentos foram colocados em frascos poliestireno estéreis para cultura de células, de 25 mm² (TPP), com 1 ml de meio DMEM/F12 suplementado com 15% de soro fetal

bovino (SFB - Cultilab) e mantidos em estufa a 37°C com 5% de CO₂. A adição de meio DMEM/F12 com SFB a 15% foi feita a cada 3 ou 4 dias, com acompanhamento e exames das culturas sob microscópio de inversão, para a observação do comportamento dos fibroblastos (aderência, migração e proliferação) até que se obtivesse um número satisfatório de células em cultura, definido pela observação de células com alta atividade mitótica e confluentes.

RESULTADOS

Foram estudados 69,76% pterígios primários e 30,23% recidivados, sendo 58,13% pterígios Graus I e II e 41,86%, Graus III e IV. Quanto ao tipo de pterígio, 76,74% eram carnosos e 23,25%, involutivos.

De acordo com as faixas etárias, 6,97% tinham idade variando de 21 a 30 anos, 0,93% de 31 a 40 anos, 25,58% de 41 a 50 anos, 18,60% de 51 a 60 anos e 27,9% eram maiores de 60 anos.

Dentre os 30 pterígios primários cultivados, 70% deles migraram e proliferaram e 60% chegaram à confluência. Em 10% foi observada contaminação com células epiteliais da conjuntiva durante a proliferação, sendo estes, descartados. Quanto aos 13 pterígios recidivados cultivados, 23,07% migraram, proliferaram e confluíram. Dos 43 fragmentos de cápsula de Tenon normal, 4,65% migraram, proliferaram e confluíram (Gráfico 1) e em 2,32% houve somente migração, sem proliferação.

A figura 1 mostra a imagem dos fibroblastos proliferando em meio de cultura.

Levando-se em conta o número total de espécimes colocados em meio de cultura, as porcentagens de células que cresceram com relação ao número de dias necessários para que houvesse o crescimento podem ser observadas no gráfico 2.

Quando comparadas culturas de fibroblastos provenientes da Tenon normal e fibroblastos provenientes de pterígios, observou-se que a migração, proliferação e confluência inicia-

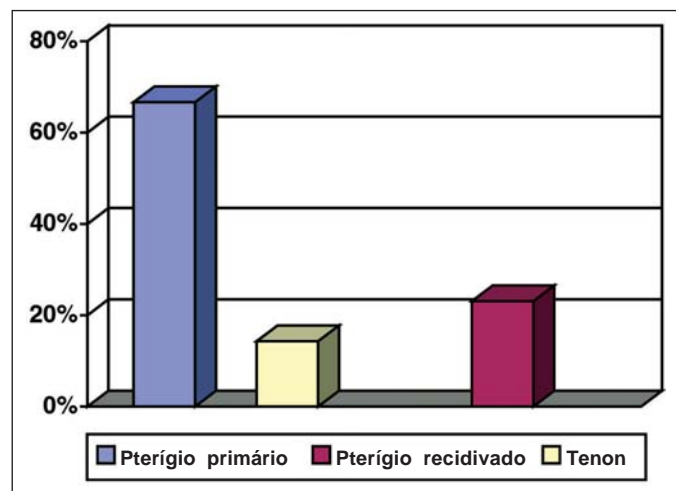


Gráfico 1 - Distribuição dos pterígios (primários e recidivados) e Tenon, segundo o resultado do cultivo celular

ram-se mais precocemente nas culturas de fibroblastos provenientes de pterígios em comparação àquelas provenientes da Tenon normal (Gráfico 2 e Tabela 1).

Os pterígios recidivados apresentaram início mais precoce da migração, quando comparados aos primários, com valores que não diferiram significativamente para a proliferação e confluência (Gráfico 2 e Tabela 2).

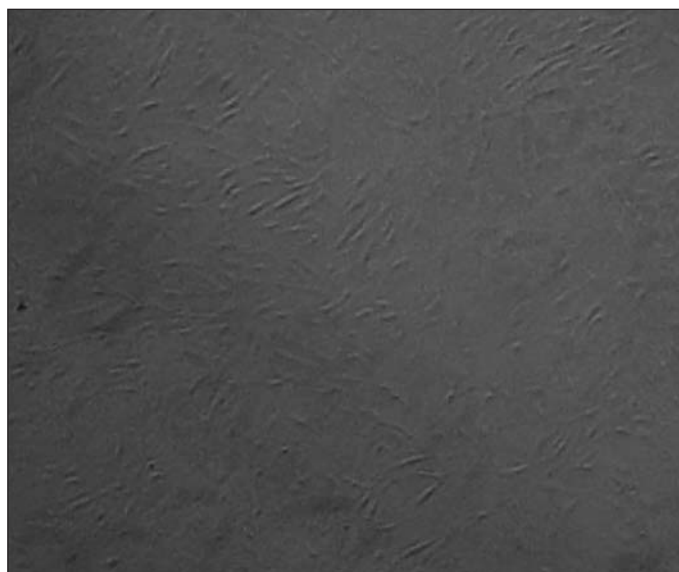


Figura 1 - Fibroblastos proliferando em aumento de 40X

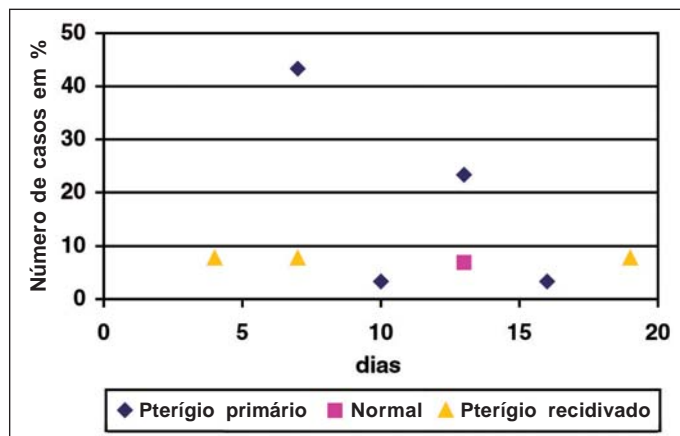


Gráfico 2 - Época do início da migração das células em cultura em relação ao tipo de pterígio, segundo o total da amostra estudada

Variável	Normal	Pterígio	Resultado do teste estatístico
Início da migração	0±7	7±10	4,54 (P<0,0001)
Início da proliferação	0±14	10±16	4,92 (P<0,0001)
Início da confluência	0±21	21±21	4,64 (P<0,0001)

Não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao início da migração, proliferação e confluência entre os pterígios carnosos e involutivos (Tabela 3).

Também não houve diferença estatisticamente significativa quanto ao início da migração, proliferação e confluência entre os pterígios de graus I-II e os de graus III-IV (Tabela 4).

Com relação à faixa etária, a migração e a proliferação, nos pterígios primários ou recidivados, ocorreram de forma semelhante, distribuídas por todas as idades, principalmente presentes nos portadores acima dos 60 anos de idade (Gráfico 3).

A confluência ocorreu em 18 pterígios primários e apenas 3 casos de pterígios recidivados. Mesmo assim, foi possível notar que a confluência dos fibroblastos em cultura ocorreu em todas as idades, tendo os portadores de 41 a 50 anos e os acima dos 60 anos apresentado em proporções superiores ao observado para as outras faixas etárias (Gráfico 4).

O teste de correlação de Spearman mostrou que não houve correlação entre a migração, proliferação ou confluência dos fibroblastos em cultura (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Os fibroblastos da Tenon normal apresentaram índices muito inferiores aos observados nos fibroblastos dos pterígios. A dificuldade dos fibroblastos da cápsula de Tenon normal se

Tabela 2. Mediana e semi-amplitude total do início da migração, proliferação e confluência segundo fibroblastos provenientes de pterígios primários ou recidivados

Variável	Primário	Recidivado	Resultado do teste estatístico
Início da migração	0±8	0±10	2,04 (P<0,005)
Início da proliferação	0±16	0±14	1,67 (P>0,05)
Início da confluência	0±21	0±21	1,38 (P>0,05)

Tabela 3. Mediana e semi-amplitude total do início da migração, proliferação e confluência segundo fibroblastos provenientes de pterígios carnosos ou involutivos

Variável	Carnoso	Involutivo	Resultado do teste estatístico
Início da migração	0±10	0±7	0,16 (P>0,05)
Início da proliferação	0±16	0±14	0,11 (P>0,05)
Início da confluência	0±21	0±16	0,06 (P>0,05)

Tabela 4. Mediana e semi-amplitude total do início da migração, proliferação e confluência segundo fibroblastos segundo o tamanho do pterígio (em Graus)

Variável	Graus I e II	Graus III e IV	Resultado do teste estatístico
Início da migração	0±8	0±10	0,72 (P>0,05)
Início da proliferação	0±16	0±14	0,39 (P>0,05)
Início da confluência	0±21	0±21	0,16 (P>0,05)

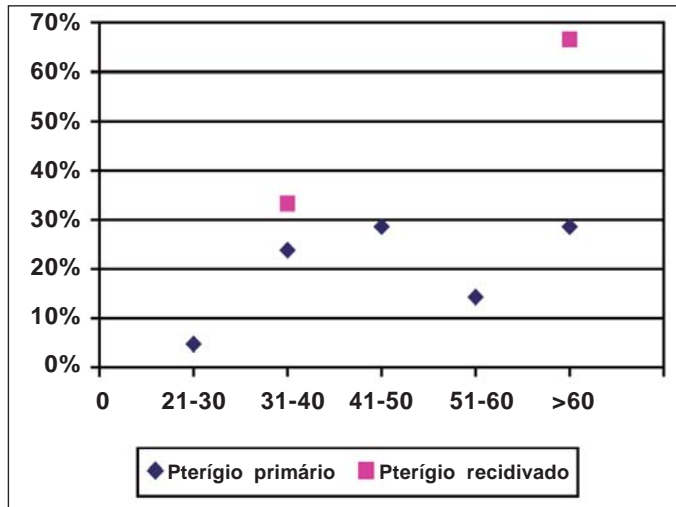


Gráfico 3 - Distribuição da migração/proliferação em valores percentuais, segundo faixa etária dos portadores e tipo de pterígio (primário ou recidivado)

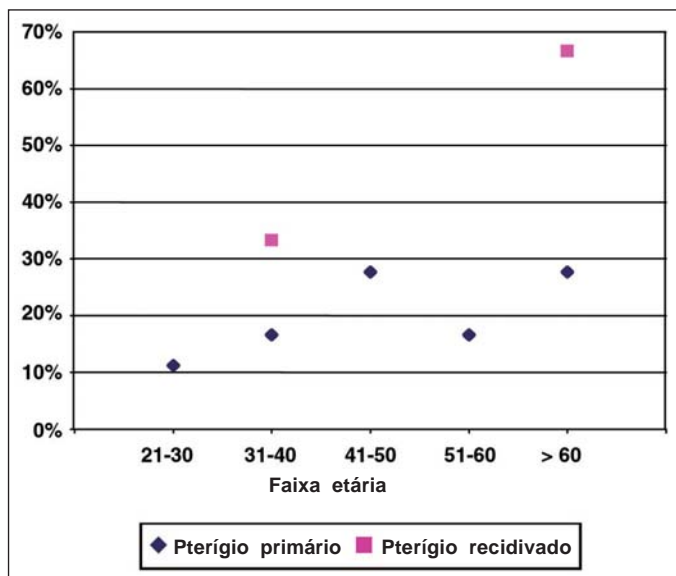


Gráfico 4 - Distribuição da confluência segundo faixa etária do portador e tipo de pterígio em percentuais (primário ou recidivado)

Tabela 5. Medida de associação entre os tempos de início da migração, proliferação e confluência		
Associação	Correlação de Spearman	Resultado do teste estatístico
Migração x proliferação	0,91	19,02 (P<0,0001)
Migração x confluência	0,92	20,22 (P<0,0001)
Proliferação x confluência	0,97	33,33 (P<0,0001)

estabelecerem em cultura de tecidos é conhecida⁽⁹⁻¹⁰⁾. Foi relatado crescimento em 67% dos pterígios primários, 33% dos pterígios recidivados (resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo) e 22% da Tenon normal⁽⁹⁾. Outro estudo obteve

índices ainda menores de crescimento para a Tenon normal (5,55%)⁽¹⁰⁾, este último muito próximo dos nossos resultados para a Tenon normal.

O motivo das células normais apresentarem menor crescimento poderia ser o fato dos tecidos normais necessitarem de maior quantidade de suplementos e fatores de crescimento, indispensáveis para o cultivo de células não transformadas⁽⁹⁾.

Diferentes características de crescimento em cultura mostraram que os fibroblastos derivados de pterígios tem maior resposta ao soro fetal bovino, necessitando de menores concentrações para crescimento, além de não necessitarem da adição de fatores de crescimento exógenos, enquanto que as células de conjuntiva normal são incapazes de crescer, mesmo com a adição de fatores de crescimento e em placas recobertas por colágeno⁽¹¹⁾. Outra observação importante é que apenas fibroblastos derivados de pterígio são capazes de formar colônias em ágar-gel, sendo esta a melhor e mais bem aceita correlação in vitro da transformação/tumorigenicidade⁽¹¹⁾.

Os fibroblastos de pterígios devem possuir algum dano molecular, responsável pela liberação do fator de crescimento básico de fibroblasto (b-FGF), um potente fator angiogênico⁽¹²⁻¹³⁾. Usando “meio condicionado” sem soro, a partir de fibroblastos em crescimento (para evitar os fatores de crescimento presentes no soro fetal bovino), verificou-se a presença de b-FGF, principalmente no “meio condicionado”, preparado a partir de pterígios recidivados, onde estava presente em concentração seis vezes maior que no meio preparado de pterígios primários; porém, houve índice semelhante de sucesso no cultivo de pterígios primários e recidivados (66,7%), apesar das diferentes concentrações de b-FGF⁽¹²⁻¹³⁾.

Quanto à migração, os fibroblastos de pterígios a iniciaram mais precocemente que os da Tenon normal, tendo sido relatado que fibroblastos da Tenon normal aderem e migram em 4 a 8 dias⁽¹⁴⁾ e os fibroblastos de pterígios, em 24 horas a 4 semanas⁽⁹⁾. Portanto, os nossos resultados estão de acordo com a literatura sobre o assunto, sendo mais fácil a obtenção da migração e proliferação de células provenientes de pterígios do que da Tenon normal.

Dos pterígios cultivados, a migração, proliferação e confluência foram mais presentes em pterígios primários que recidivados. Apenas dois estudos compararam o crescimento de pterígios primários e recidivados⁽⁹⁾, sendo os resultados também semelhantes aos aqui observados.

Esta não seria a suposição mais esperada, uma vez que os pterígios recidivados parecem ter um potencial para crescimento maior que os primários. Porém, observando-se o tempo de crescimento, observou-se que apesar do tratamento estatístico não ter demonstrado maior agressividade dos fibroblastos de pterígios recidivados, a migração e proliferação iniciaram-se mais precocemente nos pterígios recidivados, o que pode sugerir que estes tenham maior capacidade proliferativa que os primários.

Seria esperado que os fibroblastos de pterígios primários carnosos migrassem mais rapidamente que os de pterígios

primários involutivos, uma vez que, clinicamente, os pterígios carnosos possuem comportamento mais agressivo e com aparente potencial para o crescimento maior que os involutivos. Porém, não houve diferença estatisticamente significativa entre eles. Outros autores não se referiram ao tempo para migração ou proliferação, mas relataram que 85,7% dos pterígios carnosos ou ativos puderam ser subcultivados, enquanto o subcultivo foi possível em apenas 25% dos involutivos⁽¹³⁾, sinal indireto de que os pterígios carnosos possuem maior potencial para proliferação.

Segundo nossos achados, não há correlação entre o tamanho do pterígio e início da migração, proliferação ou confluência, não sendo possível comparar este dado com a literatura pela inexistência de estudos a respeito.

Com relação à idade do paciente, foi observado que a migração e proliferação, assim como a confluência, ocorreram em pterígios provenientes de portadores de todas as idades, com tendência a maior número na faixa etária entre 41-50 e acima dos 60 anos de idade. Assim, a observação clínica de que os pterígios em jovens apresentam potencial mais agressivo, inclusive com maior tendência à recidiva que os de indivíduos mais idosos, não se confirma com o comportamento das células em cultura, quando, mesmo os fibroblastos de idosos apresentaram índices de migração, proliferação e confluência em proporções até superiores aos indivíduos jovens.

Observou-se ainda que a maioria dos pterígios primários iniciou a proliferação por volta dos 10 dias, independentemente do tipo, tamanho e faixa etária. Também a respeito disso, não existem relatos na literatura.

Verificou-se que os pterígios primários chegaram à confluência no mínimo com 21 dias, enquanto que os recidivados confluíram com, no mínimo, 24 dias e o único caso de Tenon normal que confluuiu, o fez somente com 42 dias. Estes dados são discrepantes com os encontrados por outros⁽¹⁴⁾, que relataram o início da confluência com 2 semanas, usando MEM e SFB a 15%. Porém, concordam com outros que verificaram confluência em 2 a 3 semanas, tanto nos pterígios primários como nos recidivados, com aproximadamente 1 mês para que os fibroblastos da Tenon normal chegassem a confluír⁽¹³⁾. As diferenças entre os estudos podem ocorrer por metodologias diversas e também por fatores relacionados com o tamanho amostral, sendo necessárias novas observações para firmar os achados.

Este estudo mostrou ser possível realizar o cultivo, assim como o subcultivo, de fibroblastos provenientes de pterígios primários e recidivados. Demonstrou, ainda, que o cultivo de fibroblastos de cápsula de Tenon normal é mais difícil que o de pterígios. Além disso, foi possível observar diferenças na migração, proliferação e confluência relacionadas com o fato da lesão ser primária ou recidivada e que estas diferenças não são significativas se comparados o tipo (involutivo e carnosos) e o tamanho (grau) das lesões.

A partir dos dados obtidos, novas pesquisas poderão ser delineadas.

CONCLUSÃO

O cultivo celular de fibroblastos de pterígios é mais viável que o de Tenon normal. A migração, proliferação e confluência diferem em pterígios primários e recidivados. Pterígios carnosos e involutivos possuem crescimento semelhante em cultura. O crescimento em cultura também não é influenciado pelo tamanho da lesão.

ABSTRACT

Purpose: To evaluate fibroblast proliferation activity of the Tenon capsule from primary and recurrent pterygia. **Methods:** A randomized prospective study was performed with 43 surgical samples from 30 primary and 13 recurrent pterygia, and samples of normal Tenon capsule from the same pterygium patients. Proliferation, migration, and confluence rate, and patient age, lesion location and type (fleshy or involutive; primary or recurrent) were evaluated. Data were submitted to statistical analysis. **Results:** Of the 30 cultivated primary pterygia, 21 migrated and proliferated, and 18 (60%) went to confluence. Migration, proliferation and confluence started much later in fibroblasts from normal Tenon than from pterygia lesion. The recurrent pterygia showed migration, proliferation, and confluence starting much earlier than the primary ones. There was no statistically significant difference in the start of migration, proliferation and confluence between fleshy and involuted pterygia, or between pterygias of Grades I-II and III-IV. **Conclusion:** Pterygium fibroblasts are more viable than normal Tenon in cell culture. Migration, proliferation, and confluence differ in primary and recurrent pterygia. Fleshy and involutive pterygia are similar in culture; there is also no difference between pterygia according to lesion size in cell culture.

Keywords: Pterygium; Recurrence; Cell proliferation; Fibroblasts; Conjunctiva

REFERÊNCIAS

1. Serracarbassa LL, Dantas MCN. Desordens degenerativas da conjuntiva-córnea-esclera. In: Lima ALH, Nishiwaki-Dantas MC, Alves MR. Doenças externas oculares e córnea. São Paulo: Cultura Médica; 1999. v.8, p.371-4. [Manuais básicos CBO].
2. Moran DJ, Hollows FC. Pterygium and ultraviolet radiation: a positive correlation. *Br J Ophthalmol.* 1984;68(5):343-6.
3. Hilgers JH. Pterygium: its incidence, heredity and etiology. *Am J Ophthalmol.* 1960;50:635-44.
4. Fialho TA. Pterígio: considerações atualizadas; estudo sucinto. *Rev Bras Oftalmol.* 1988;47(3):171-3.
5. Bittencourt LCF, Kureski ML, Santos L, Arana J. Estudo do filme lacrimal em pacientes portadores de pterígeo. *Rev Bras Oftalmol.* 1996;55(1):33-8.
6. Dushku N, Scheeltz GS, Reid TW. Pterygia pathogenesis: corneal invasion altered limbal basal stem cells and activation of fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;15:S2388.
7. Wong WW. A hypothesis on the pathogenesis of the pterygiums. *Ann Ophthalmol.* 1978;10(3):303-8.
8. Pinkerton OD, Hokama Y, Shigemura LA. Immunologic basis for the pathogenesis of pterygium. *Am J Ophthalmol.* 1984;98(2):225-8.

9. Baldó D BM, Arvelo F, Acevedo M. Estudio biomorfológico en cultivo de fibroblastos obtenidos de pterigión primario y pterigión recidivante tratados con Mitomicina C. Rev Ophthalmol Venez. 1998;54(3):28-42.
10. Levy WJ, Levy J, Clapper WE. Pterygium tissue culture histoimmunological study. Arch Ophthalmol. 1970;83(4):402-5.
11. Chen JK, Tsai RJ, Lin SS. Fibroblasts isolated from human pterygia exhibit transformed cell characteristics. In Vitro Cell Dev Biol Anim. 1994;30A(4): 243-8.
12. Cameron ME. Histology of pterygium: an electron microscopic study. Br J Ophthalmol. 1983;67(9):604-8.
13. Kria L, Ohira A, Amemiya T. Growth factors in cultured pterygium fibroblasts: immunohistochemical and ELISA analysis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 1998;236(9):702-8.
14. Lee DA, Lee TC, Cortes AE, Kitada S. Effects of mithramycin, mitomycin, daunorubicin, and bleomycin on human subconjunctival fibroblast attachment and proliferation. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1990;31(10):2136-44.



2006

CONGRESSO MUNDIAL DE OFTALMOLOGIA

**XXX Congresso Internacional de Oftalmologia
XXVI Congresso Pan-Americano de Oftalmologia
XVII Congresso Brasileiro de Prevenção da Cegueira**

São Paulo - Brasil - 19-24 fevereiro 2006

- Presença de todas as Sociedades Supranacionais, Internacionais e Nacionais
- 60 Sociedades de sub-especialidades do mundo inteiro representadas no programa científico
- 18 salas com 72 atividades por dia
- 630 apresentações científicas por dia
- Fórum Mundial de Jornais Científicos de Oftalmologia
- Fórum de Organizações Não Governamentais
- 4 Subspecialty Days: Retina, Glaucoma, Catarata e Cirurgia Refrativa

Informações: www.opthalmology2006.com.br

	No local
Oftalmologista sócio	R\$ 550,00
Médico	R\$ 850,00
Residente e/ou Aluno de Curso de Especialização credenciado pelo CBO/Estudantes de Medicina	R\$ 280,00
Outros Profissionais, Técnico e Auxiliar	R\$ 300,00
Representante de ONGs	R\$ 270,00
Acompanhante	R\$ 200,00
10º Congresso Internacional ISA-CLADE - São Paulo 17 a 20 de fevereiro de 2005	R\$ 150,00 (*)

(*) Valor a ser agregado à taxa do Mundial permitindo acesso às sessões científicas dos dois congressos.